



Efisiensi Metabolisme Rumen Pakan Berbasis Jerami Padi Amoniasi dan Konsentrat yang Disuplementasi Ekstrak Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus*) (In-Vitro)

(Rumen metabolism efficiency of rice straw ammoniation and concentrate based diet supplemented with *Hibiscus tiliaceus* leaf extract in vitro)

Muhamad Bata^{1*}, Sri Rahayu¹, dan Mela Oktora¹

¹Magister Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Indonesia

ABSTRAK. Penelitian bertujuan mengkaji pengaruh interaksi taraf suplementasi ekstrak etanol daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) dan rasio jerami padi amoniasi dan konsentrat terhadap efisiensi metabolisme rumen dan total protozoa rumen secara *in vitro*. Penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok pola faktorial 3 x 3. Faktor pertama adalah imbang bahan kering (BK), jerami padi amoniasi (JPA) dan konsentrat yaitu 45:55 (R1), 55:45 (R2), dan 65:35 (R3). Faktor kedua adalah taraf suplementasi ekstrak etanol daun waru yaitu 0 ppm (E0), 200 ppm (E1), dan 400 ppm (E2). Variabel yang diamati adalah total protozoa dan produk fermentasi rumen yaitu sintesis protein mikroba (SPM), volatile fatty acids (VFA), N-NH₃, gas metan, rasio Asetat/Propionat (A/P), dan efisiensi konversi glukosa menjadi VFA (EVFA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi ($P>0,05$) antara rasio JAP: konsentrat dan taraf ekstrak etanol daun waru terhadap N-NH₃, total VFA, asam asetat, asam propionat, asam butirat, rasio A/P, dan (EVFA). Rasio JAP: konsentrat R2 menghasilkan EVFA dan SPM lebih tinggi ($P<0,05$) jika dibandingkan dengan R1 dan R3, akan tetapi metan dan protozoa lebih rendah ($P<0,05$). Suplementasi ekstrak etanol daun waru sampai 400 ppm meningkatkan secara liner ($P<0,05$) EVFA, SPM, dan propionate, akan tetapi menurunkan rasio A/P, gas metan, total protozoa, dan asetat. Suplementasi ekstrak etanol daun waru pada taraf 400 ppm dan rasio JAP: konsentrat 55:45% BK dapat meningkatkan efisiensi metabolisme rumen.

Kata kunci: Asetat, fermentasi, metan, protozoa, saponin

ABSTRACT. The aim of this study was to examine the effect of the interaction between the level of supplementation of ethanolic extracts of waru leaves (*Hibiscus tiliaceus*) and the ratio of ammoniated rice straw and concentrate on rumen metabolism efficiency and total rumen protozoa *in vitro*. The research was carried out experimentally designed using a 3 x 3 factorial randomized block design. The first factor was the dry matter (DM) ratio of ammoniated rice straw (ARS) and the concentrates were 45:55 (R1), 55:45 (R2), and 65:35 (R3). The second factor was the supplementation level of ethanolic extracts of waru leaves of 0, 200, and 400 ppm for E0, E1, and E2, respectively. The variables measured were total protozoa and rumen fermentation products, namely microbial protein synthesis (MSP), volatile fatty acids (VFA), N-NH₃, methane gas, acetate/propionate (A/P) ratio, and efficiency of glucose conversion to VFA (EVFA). The results showed that there was no interaction ($P>0.05$) between the ratio of ARS:concentrate and the ethanolic extract level of waru leaves on N-NH₃, total VFA, acetic acid, propionic acid, butyric acid, A/P ratio, and (EVFA). The ratio of ARS: concentrate on R2 resulted in higher EVFA and SPM ($P<0.05$) compared to R1 and R3, but lower methane and protozoa ($P<0.05$). Supplementation of waru leaf ethanol extract up to 400 ppm increased linearly ($P<0.05$) EVFA, SPM, and propionate, but decreased A/P ratio, methane gas, total protozoa, and acetate. Supplementation of the ethanolic extracts of waru leaves at the level of 400 ppm and the ratio of ARS:concentrate is 55: 45% increase the efficiency of rumen metabolism.

Keywords: Acetate, fermentative, methane, protozoa, saponin

PENDAHULUAN

Jerami padi adalah satu sumber pakan berserat utama di negara tropis (Khandaker *et al.*, 2012; Su *et al.*, 2012), akan tetapi, rendahnya kandungan protein dan tingginya polisakarida struktural yang menyebabkan penurunan pencernaan, konsumsi bahan kering, dan akhirnya berdampak negatif terhadap performan ternak ruminansia (Safari *et al.*, 2011). Pakan berserat

dengan kualitas rendah seperti jerami padi dapat ditingkatkan mutunya melalui perlakuan kimia, fisik, dan suplementasi dengan sumber nitrogen (Nguyen *et al.*, 2020). Perlakuan urea menjadi cara yang paling cocok untuk memperbaiki kualitas jerami padi untuk peternak skala kecil (Hanafi *et al.*, 2012), namun proses ini mempunyai kelemahan antara lain tingginya N-NH₃ yang lepas ke udara bebas, sehingga menimbulkan permasalahan lingkungan (Khan *et al.*, 2006; Hassouna dan Eglin, 2016) dan meningkatnya peluang keracunan pada ternak. Bata dan Hidayat (2010) melaporkan amoniasi jerami padi menggunakan urea dengan bahan aditif molasses dapat memperbaiki kualitas

*Email Korespondensi: muhamadbata@yahoo.com

Diterima: 13 Januari 2021

Direvisi: 9 Maret 2021

Disetujui: 16 Juni 2021

DOI: <https://doi.org/10.17969/agripet.v21i2.19463>

amoniasi yang ditandai dengan penurunan ammonia yang terbuang, meningkatkan VFA, efisiensi penggunaan nitrogen dan sintesis protein mikroba dalam rumen secara *in vitro*. Peningkatan VFA hasil fermentasi karbohidrat struktural dari jerami padi amoniasi didominasi oleh asetat dan butirat dan proses pembentukannya selalu melepaskan H₂, oleh karena itu peningkatan VFA dapat dipastikan meningkatnya produksi gas metan (Holtshausen *et al.*, 2009; Jayanegara *et al.*, 2017). Gas metan yang ada di alam merupakan tipikal gas rumah kaca (GRK) dan gas ini antara lain dihasilkan dari kerja bakteri metanogenik dalam sistem pencernaan ruminansia (Thalib *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2015; Jayanegara *et al.*, 2017). Bakteri metanogenik yang bersimbiosis dengan protozoa ciliata rumen berkontribusi sekitar 9–37% terhadap produksi gas metan dalam rumen (Tan *et al.*, 2020). Tingginya gas metan ini juga akan menurunkan efisiensi konversi energi dari glukosa menjadi VFA dalam rumen, sehingga berdampak negatif terhadap produktivitas ternak ruminansia dan lingkungan.

Salah satu upaya menurunkan metan adalah melalui pemberian agen defaunasi. Haque (2018) menyatakan bahwa dua keuntungan utama defaunasi adalah meningkatkan penggunaan nutrisi oleh ternak dan membatasi transfer H₂ antara bakteri dan protozoa sehingga dapat mengurangi metan. Beberapa peneliti telah berupaya menurunkan populasi protozoa dan metan rumen melalui pemberian senyawa sekunder seperti saponin dan tanin terkondensasi yang berasal dari tanaman, yaitu kacang kratok/jawa (*Phaseolus calcaratu*) (Chantakhoun *et al.*, 2011), tepung kulit manggis (Wanapat *et al.*, 2013), sengon (*Paraserianthes falcataria*), *Sapindus rarak* (Jayanegara *et al.*, 2017; Wina dan Muetzel, 2020), dan daun murbei (Chen *et al.*, 2015). Saponin memiliki aktivitas antiprotozoa (agen defaunasi) kuat melalui pembentukan sterol kompleks pada membran sel protozoa (Wina dan Muetzel, 2020) dan sampai batas tertentu menunjukkan aktivitas bakteriolitik di rumen. Saponin bersifat antiprotozoa pada konsentrasi yang lebih rendah, sedangkan konsentrasi yang lebih tinggi dapat menekan bakteri metanogenik (Bodas *et al.*, 2012). Penambahan saponin dapat mengurangi metan hingga 50% telah dilaporkan oleh (Patra and Saxena, 2009). Upaya lain yang dapat dilakukan untuk mengurangi metan adalah penggunaan konsentrat. Berbagai bahan penyusun konsentrat mengandung karbohidrat struktural (selulosa dan hemeselulosa) dan karbohidrat non struktural (pati dan gula) yang menghasilkan

metan yang berbeda-beda (Haque, 2018). Pencernaan karbohidrat struktural menghasilkan rasio asetat: propionat (C2:C3) dan metan yang tinggi dan sebaliknya karbohidrat non struktural menghasilkan rasio C2:C3 dan metan yang rendah. Pemberian pakan tinggi pati pada ruminansia dapat mengurangi gas metan dibandingkan dengan pakan hijauan (Beauchemin *et al.*, 2009). Fermentasi pati akan mendorong produksi propionat dengan membuat alternatif penampungan H₂ (H₂ sink) (Murphy *et al.*, 1982), pH rumen yang rendah, menghambat pertumbuhan bakteri metanogenik (Hünerberg *et al.*, 2015), penurunan protozoa dan pembatasan transfer H₂ antar spesies antara bakteri metanogenik dan protozoa (Tan *et al.*, 2020).

Daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) mengandung senyawa bioaktif yang mempengaruhi kondisi lingkungan mikroba rumen. Daun waru dilaporkan mengandung 3% saponin, 48,2 ppm asam fumarat, dan 78,6 ppm tannin. Selain itu, ekstrak daun waru menggunakan air sebagai pelarut diketahui mengandung komponen anti protozoa yaitu *quinoline* sebesar 24,6% (Bata and Rahayu., 2017). Penelitian ini bertujuan mengkaji pengaruh interaksi berbagai imbalan JPA dan konsentrat dengan taraf ekstrak daun waru yang berbeda terhadap efisiensi metabolisme rumen secara *in vitro*.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Pakan yang digunakan pada penelitian adalah jerami padi amoniasi (JPA) dan konsentrat untuk sapi potong dengan kandungan nutrisi tertera pada Tabel 1. Konsentrat tersusun atas pollard, jagung, bungkil kelapa, onggok, mineral mix merk “Ultra Mineral”, dan garam yang diperoleh dari peternakan sapi potong UD. Sapi Amanah Farm-Purwokerto. Cairan rumen sebagai sumber inokulum diambil dari 3 ekor sapi yang dipotong di Rumah Pemotongan Hewan (RPH) segera setelah dipotong.

Amoniasi jerami padi menggunakan urea dengan onggok sebagai bahan aditif (Bata *et al.*, 2016). Secara ringkas prosedurnya dapat dijelaskan sebagai berikut. Jerami padi kering udara ditimbang sebanyak 5 kg, urea 250 gram (5% berat jerami padi), dan 125 gram (2,5% dari berat jerami padi).

Tabel 1. Kandungan nutrisi jerami padi amoniasi (JPA) dan Konsentrat (100% BK)

Bahan	% BK						
	PK	Lemak	SK	Abu	BETN	NDF	ADF
JPA	8.50	10.45	28.37	15,19	51,67	53.30	25.65
Konsentrat	14,50	11.80	13.70	10,20	49,80	46.29	25.84

Keterangan: PK=protein kasar, SK=serat kasar, BETN= bahan ekstrak tanpa nitrogen, NDF=*neutral detergent fiber* dan ADF=*acid detergent fiber*

Urea dan onggok dilarutkan dalam air 2,5 liter dan larutan tersebut dipercikkan pada jerami padi dan dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diikat.

Proses amoniasi berlangsung selama 21 hari. Hasil amoniasi dikeringkan pada oven dengan suhu 60°C selama tiga hari. Selanjutnya digiling dengan blender dengan saringan ukuran 0,8 mm.

Pencampuran tepung jerami padi amoniasi dengan konsentrat dilakukan berdasarkan bahan kering (BK) sesuai rasio pakan yaitu 45:55, 55:45, dan 65:35% masing-masing untuk perlakuan R1, R2, dan R3. Imbangan JPA dan Konsentrat serta kandungan nutriennya disajikan pada Tabel 2.

Daun waru (*H. tiliaceus*) dikeringkan di bawah sinar matahari atau oven suhu 50°C selama dua hari kemudian digiling menjadi tepung. Sebanyak 100 g tepung daun waru diekstrak dalam satu liter ethanol sambil diaduk selama 24 jam pada suhu ruang. Selanjutnya, larutan disaring menggunakan kertas saring kemudian ekstrak dikeringkan menggunakan *rotary evaporation* (Buchi rotary evaporator Model R-200) pada suhu 40°C hingga volume larutan tersisa 10 ml. Etanol dalam ekstrak diuapkan kemudian ekstrak ditimbang. Ekstrak dilarutkan kembali menggunakan sedikit etanol dan dicampur dengan tepung JPA dengan rasio 1:1 hingga homogen kemudian dikeringkan dalam oven 50°C.

Tabel 2. Imbangan jerami padi amoniasi dan konsentrat serta kandungan nutriennya

	Imbangan JPA dan K		
	R1	R2	R3
JPA : K	45:55	55:45	65:35
Kandungan Nutrien	% BK		
Protein Kasar	11,81	11,21	10,61
Lemak	11,19	11,06	10,92
Serat Kasar	20,30	21,76	23,23
Abu	12,44	12,94	13,44
BETN	50,64	50,83	51,02
NDF	49,45	50,14	50,84
ADF	25,77	25,75	25,73

Keterangan: BETN= bahan ekstrak tanpa nitrogen, NDF=*neutral detergent fiber* dan ADF=*acid detergent fiber*

Jumlah ekstrak etanol daun waru yang dicampurkan ke dalam per kg konsentrat adalah 0,072 gram (200 ppm) dan 0,144 gram (400 ppm) untuk imbangan 45:55; 0,088 gram (200 ppm) dan 0,176 gram (400 ppm) untuk imbangan 55:45; dan 0,112 gram (200 ppm) dan 0,224 gram (400 ppm) untuk imbangan 65:35

Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimental secara *in vitro* sesuai prosedur Tilley dan Terry (1963) serta Close dan Menke (1986).

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) pola faktorial 3x3 dan waktu pengambilan cairan rumen sebagai kelompok. Faktor pertama adalah imbangan BK

JPA dan konsentrat masing-masing 45:55, 55:45, dan 65:35 untuk R₁, R₂ dan R₃. Faktor yang kedua adalah taraf ekstrak etanol daun waru masing-masing 0, 200, dan 400 ppm untuk E₀, E₁ dan E₂. Dengan demikian terdapat 9 kombinasi perlakuan yaitu: R₁E₀, R₁E₁, R₁E₂, R₂E₀, R₂E₁, R₂E₂, R₃E₀, R₃E₁, dan R₃E₂.

Peubah yang Diukur

Peubah yang diukur meliputi VFA parsial diukur menggunakan *Gas Chromatography*. VFA total dihitung dari penjumlahan proporsi masing-masing VFA parsial (asetat, propionat dan butirrat). Amonia nitrogen (N-NH₃) diukur menggunakan teknik mikro difusi Conway (Davids dan Smith, 1958), total gas diukur menggunakan metode *Gas Test* (Close and

Menke, 1986), gas metan dan efisiensi konversi energi glukosa menjadi VFA (EVFA) menggunakan rumus Ryle and Orskov (1990). Sintesis protein mikroba (SPM) menggunakan metode sentrifugasi bertahap modifikasi Makkar *et al.* (1982). Total protozoa diukur menggunakan *Sedgewick Rafter Counting Chamber* (Ogimoto dan Imai., 1981) dan rasio asetat:propionat dihitung berdasarkan jumlah asam asetat dibagi dengan jumlah asam propionat.

Analisis Kimia

Analisis kadar air, protein kasar, serat kasar, lemak, abu, NDF, dan ADF menurut petunjuk AOAC (2019). Supernatan dari hasil *in vitro* diambil yang selanjutnya digunakan untuk analisis total protozoa, sintesis protein mikroba, VFA parsial, dan N-NH₃.

Analisis kimia VFA parsial diukur menggunakan *Gas Chromatography Chrompack* 9002, kolom kapiler *WCOT fused silica* 25 m x 0.32 mm *ID coating FFAP-CB* untuk asam lemak bebas. Total protozoa rumen dihitung berdasarkan teknik pewarnaan dengan menggunakan larutan *methyl green formalin salin* (MFS) dalam larutan NaCl fisiologis (Ogimoto dan Imai., 1981).

Analisis Statistik

Data dianalisis menggunakan analisis variansi dan dilanjutkan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) bila terdapat interaksi antar perlakuan. Jika tidak terjadi interaksi maka dilanjutkan dengan uji orthogonal polynomial bila pengaruh faktor II nyata dan bila faktor I berpengaruh nyata maka dilanjutkan uji BNJ (Steel dan Torie, 1993)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Protozoa, Sintesis Protein Mikroba dan Produksi Gas Metan

Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi antar imbalan JPA: Konsentrat (R) dengan taraf ekstrak etanol daun waru (E) tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap total protozoa, gas metan, N-NH₃, dan sintesis protein mikroba (SPM). Namun penambahan ekstrak daun waru (W) berpengaruh ($P<0,01$) terhadap total protozoa, produksi gas metan, N-NH₃, dan SPM. Imbalan JPA:konsentrat (R) berpengaruh ($P<0,01$) terhadap total protozoa, produksi gas metan, dan SPM, akan tetapi tidak berpengaruh terhadap N-NH₃ (Tabel 3).

Tabel 3. Total protozoa, sintesis protein mikroba (SPM) dan produksi gas metan pada berbagai imbalan JPA dan K (R) dan berbagai taraf ekstrak etanol daun waru (W).

Variabel	JPA: K (%)			W (ppm)		
	R ₁ (45:55)	R ₂ (55:45)	R ₃ (65:35)	E ₀ 0	E ₁ 200	E ₂ 400
Protozoa (cel/ml, 10 ⁵)	4,33 ^a ±0,83	3,75 ^b ±1,00	3,87 ^b ±0,88	5,05 ^a ±0,29	3,87 ^b ± 0,28	3,02 ^c ± 0,47
Metan (mM)	15,41 ^a ±1,38	13,82 ^b ±1,54	15,23 ^a ±1,39	15,98 ^a ±1,15	14,88 ^b ± 1,56	13,61 ^c ± 1,03
N-NH ₃ (mM)	3,17 ^{ns} ±0,44	2,92 ^{ns} ±0,57	3,04 ^{ns} ±0,65	3,46 ^a ±0,31	3,04 ^b ± 0,38	2,63 ^c ± 0,60
SPM	7,99 ^b ±2,36	9,79 ^a ±3,60	8,25 ^b ±2,64	7,24 ^a ±2,24	8,42 ^b ± 3,01	10,37 ^c ± 2,83

Keterangan: ^{abc}Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P<0,05$)

JPA, Jerami padi amoniasi; K, konsentrat; W, ekstrak etanol daun waru; SPM, sintesis protein mikroba; ns, tidak signifikan

Peningkatan level ekstrak etanol daun waru dalam ransum dapat menurunkan total protozoa dan gas metan secara linear ($P<0,01$). Hal ini disebabkan karena ekstrak daun waru mengandung saponin, senyawa aktif yang dapat merusak dinding sel protozoa rumen atau sebagai agen defaunasi sehingga menyebabkan penurunan protozoa. Sebanyak 23– 30% bakteri metanogenik bersimbiosis dengan protozoa. Dengan demikian penurunan protozoa juga akan diikuti pula oleh penurunan produksi gas metan. Li *et al.* (2018) dan Qin *et al.* (2012) menyatakan bahwa produksi gas metan tinggi ditemukan pada kondisi faunasi dibandingkan defaunasi. Jumlah protozoa dalam rumen berkontribusi dalam produksi metan karena

protozoa menghasilkan sejumlah hidrogen ketika mencerna karbohidrat struktural (Nguyen *et al.*, 2020). Gas metan dihasilkan saat metabolisme karbohidrat oleh bakteri *archaea* (metanogenik) rumen yang hidup bersimbiosis dengan protozoa (Adawiyah *et al.*, 2007).

Saponin memengaruhi perkembangan protozoa, karena saponin mampu membentuk ikatan dengan sterol yang terkandung dalam dinding sel protozoa, sehingga memengaruhi integritas membran sel dan mengakibatkan pecahnya dinding sel (Suharti *et al.*, 2009). Selain bersifat antiprotozoa, saponin juga dilaporkan bersifat antibakteri terhadap bakteri gram-positif (Holtshausen, 2009). Bakteri metanogenik rumen

Methanobrevibacter ruminantium dan *Methanosarcina* bakteri adalah termasuk bakteri gram-positif (Moss, 1993). Selain faktor saponin, penurunan protozoa juga disebabkan oleh *quinoline* yang terkandung dalam ekstrak daun waru (Bata dan Rahayu., 2017). *Quinoline* merupakan senyawa bioaktif yang terdapat dalam tanaman yang bersifat antiprotozoa (Tempone *et al.*, 2005 dan Katarina *et al.*, 2012).

Peningkatan penggunaan JPA pada R₂ dan R₃ menghasilkan jumlah protozoa lebih rendah ($P<0.01$) jika dibandingkan dengan R₁. Hal ini terkait dengan ketersediaan nutrisi R₂ dan R₃ yang lebih rendah akibat penurunan konsentrasi dibandingkan dengan R₁. Hasil ini berbeda dengan (Tan *et al.*, 2020) yang menyatakan bahwa fermentasi pati yang banyak mengandung konsentrasi merangsang produksi propionate rumen dengan menciptakan alternatif H₂ sink, pH rumen yang rendah, menghambat pertumbuhan metanogenesis, menurunkan protozoa rumen dan membatasi transfer H₂ antar species antara protozoa dan bakteri.

Populasi protozoa di dalam rumen berbanding lurus dengan produksi gas metan, artinya produksi gas metan berkurang bila populasi protozoa rumen menurun. Gas metan dan total protozoa terendah ditemukan pada R₂ (55:45). Imbangan BK JPA dan K masing-masing 45 : 65 (R₁) dan 65 : 35 (R₃) tidak memperlihatkan adanya perbedaan dalam produksi gas metan. Hasil ini berbeda dengan yang dilaporkan Wallace *et al.* (2014) bahwa konsentrasi tinggi menghasilkan emisi metan yang rendah. Total protozoa R₁ paling tinggi sehingga gas metan yang dihasilkan juga tinggi, sedangkan gas metan R₃ meningkat karena meningkatnya penggunaan JPA (Tabel 3). Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Kim *et al.* (2017) bahwa produksi metan secara in-vitro menurun pada pakan dengan imbangan hijauan dan konsentrat yang medium dibandingkan dengan imbangan baik hijauan maupun konsentrat yang tinggi.

Peningkatan suplementasi ekstrak daun waru (W) menyebabkan penurunan N-NH₃ secara linear ($P<0,01$) akan tetapi menyebabkan peningkatan SPM secara linear ($P<0,01$). Penurunan N-NH₃ tertinggi ditemukan pada R₂ sebesar 20,99%, kemudian disusul menjadi 18,96% pada R₃. Hasil penelitian ini sejalan dengan Wina *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa suplementasi ekstrak metanol *sapindus rarak* signifikan menurunkan konsentrasi N-NH₃ dan meningkatkan SPM rumen. Jadhav *et al.* (2016) melaporkan bahwa defaunasi

menggunakan saponin asal teh sebesar 0,4 dan 0,8 mg/ml cairan rumen menghasilkan proporsi asam asetat, NH₃ dan protozoa lebih rendah, akan tetapi propionat dan SPM rumen meningkat. Defaunasi meningkatkan jumlah bakteri amilolitik karena eliminasi kompetisi nutrisi antara bakteri dan protozoa pada penggunaan pati, tetapi menurunkan populasi bakteri selulolitik dan peningkatan populasi fungi (Ulfina *et al.*, 2018). Terdapat hubungan timbal balik antara sintesis SPM dengan konsentrasi N-NH₃. Penurunan N-NH₃ terjadi karena meningkatnya pertumbuhan mikroba sebagai akibat peningkatan karbohidrat non-struktural. Selain itu, penurunan konsentrasi N-NH₃ diduga berhubungan dengan penurunan aktivitas bakteri proteolitik dan penurunan degradasi protein akibat adanya ikatan antara protein dan senyawa tannin, karena selain mengandung saponin dan *quinoline*, daun waru juga mengandung tannin. Bata and Rahayu (2017), menginformasikan kandungan tanin pada daun waru mencapai 8,93%.

Sintesis protein mikroba (SPM) tertinggi ($P<0.05$) ditemukan pada R₂ (55:45) dibandingkan R₃ dan R₁, sedangkan diantara R₁ dan R₃ tidak berbeda nyata. Peningkatan SPM R₃ cenderung lebih rendah dibanding R₂, hal ini disebabkan pada R₃ porsi konsentrat lebih sedikit, kondisi tersebut mengakibatkan pertumbuhan bakteri menurun. Imbangan JPA dan konsentrat pada R₂ lebih sesuai dengan kebutuhan mikroba rumen jika dibandingkan dengan R₁ dan R₃. Peningkatan aktivitas mikroba rumen memerlukan ketersediaan N-NH₃ yang cukup, sehingga pada R₂ konsentrasi N-NH₃ cenderung lebih rendah dibandingkan dengan R₁ dan R₃ (Tabel 2)

Total VFA dan Efisiensi Konversi Energi Glukosa Menjadi VFA (EVFA)

Analisis variansi menunjukkan bahwa interaksi R dengan W tidak berpengaruh terhadap total VFA, asam asetat, asam propionat, asam butirat, rasio asetat/propionat (A/P), dan EVFA. Namun penambahan ekstrak etanol daun waru (W) berpengaruh ($P<0,05$) terhadap asam asetat, asam propionat dan rasio A/P dan EVFA, akan tetapi tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap asam butirat dan total VFA. Imbangan JPA:konsentrat (R) berpengaruh ($P<0,05$) terhadap asam asetat, rasio A/P, total VFA dan EVFA tetapi tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap asam propionat dan asam butirat (Tabel 4). Peningkatan ekstrak etanol daun waru (W) menjadi 200 dan 400 ppm menyebabkan peningkatan secara linear ($P<0,01$) konsentrasi propionat dan EVFA, akan tetapi

menurunkan rasio A/P. Situasi ini sejalan dengan data total protozoa yang juga mengalami penurunan sehingga sintesis gas metan oleh bakteri metanogenik terganggu. Peningkatan proporsi propionat disebabkan oleh pergeseran penggunaan gas H₂ hasil fermentasi yang kemudian digunakan untuk produksi asam (Suharti *et al.*, 2009; Istiqomah *et al.*, 2011). Li *et al.* (2018) melaporkan bahwa penurunan protozoa

awalnya merubah pola fermentasi menuju peningkatan propionat dan penurunan metan. Rendahnya penggunaan gas H₂ karena berkurangnya bakteri metanogenik akibat turunnya populasi protozoa sebagai inang bakteri adalah akibat penambahan ekstrak waru yang mengandung saponin dan *quinoline* (Bata dan Rahayu, 2017).

Tabel 4. Kadar VFA total, asam asetat, asam propionat, asam butirir, rasio A/P, dan efisiensi konversi energi (EVFA) pada berbagai imbalan JPA, konsentrat, dan taraf ekstrak daun waru

Variabel	JPA:Konsentrat (%)			W (ppm)		
	R ₁ (45:55)	R ₂ (55:45)	R ₃ (65:35)	E ₀ 0	E ₁ 200	E ₂ 400
VFA Total (mM)	48,87 ^a ±3,14	45,81 ^b ±2,14	47,36 ^{ab} ±3,55	46,75 ^{ns} ±3,00	47,19 ^{ns} ±2,58	48,10 ^{ns} ±3,93
Acetate (mM)	29,48 ^a ±1,86	26,98 ^b ±1,73	29,14 ^a ±1,70	29,46 ^a ±1,79	28,59 ^{ab} ±1,96	27,54 ^b ±2,07
Propionate (mM)	12,03 ^{ns} ±2,40	12,10 ^{ns} ±2,14	11,26 ^{ns} ±2,59	9,86 ^a ±1,04	11,62 ^b ±1,61	13,92 ^c ±2,20
Butirat (mM)	7,36 ^{ns} ±1,42	6,72 ^{ns} ±0,81	6,96 ^{ns} ±0,93	7,42 ^{ns} ±0,93	6,98 ^{ns} ±1,23	6,64 ^{ns} ±1,03
Rasio A/P	2,54 ^{ab} ±0,51	2,30 ^b ±0,49	2,70 ^a ±0,47	3,0 ^a ±0,21	2,5 ^b ±0,20	2,02 ^c ±0,21
EVFA	76,39 ^a ±0,98	77,07 ^b ±0,96	75,99 ^a ±0,88	75,09 ^a ±0,78	76,35 ^b ±0,89	77,98 ^c ±0,69

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada baris yang menunjukkan berbeda nyata (P < 0.05).

JPA, Jerami Padi Amoniasi, K, Konsentrat; VFA, volatile fatty acids; W, ekstrak etanol daun waru; EVFA, efisiensi konversi glukosa menjadi VFA

Peningkatan asam propionat dan menurunnya metan akan meningkatkan EVFA karena metan merupakan energi terbuang yang dihasilkan dari proses fermentasi karbohidrat, sehingga semakin rendah produksi metan maka EVFA akan semakin tinggi. Protozoa bersaing dengan bakteri amilolitik dalam penggunaan pati, pati oleh protozoa difermentasi menjadi asetat (Williams dan Coleman., 1992), sedangkan oleh bakteri amilolitik difermentasi menjadi propionat (Millen *et al.*, 2016). Bagi induk semang, efisiensi pemulihan energi berkurang 38% bila glukosa difermentasi menjadi asetat, tetapi efisiensi tersebut meningkat 9% bila difermentasi menjadi propionat (Ryle and Orskov., 1990; Millen *et al.*, 2016).

Efisiensi energi juga dapat dilihat dari rasio A/P yang menurun secara liner (P < 0,05) sejalan dengan meningkatnya penambahan ekstrak daun waru. Hal ini menunjukkan semakin tinggi suplementasi ekstrak etanol daun waru maka semakin tinggi pula efisiensi energi. Penurunan rasio A/P mencerminkan peningkatan konsentrasi asam propionat. Peningkatan produksi propionat lebih menguntungkan untuk pertumbuhan atau penggemukan ternak. Peningkatan proporsi asam propionat menjadi indikator meningkatnya efisiensi penggunaan energi oleh ternak (Kliem *et al.*, 2018).

Konsentrasi asam propionat pada R₃ cenderung lebih rendah karena R₃ mengandung

JPA tertinggi (65%). Rendahnya propionat menyebabkan peningkatan produksi metan. Produksi metan yang dihasilkan R₂ lebih rendah karena produksi asetat dan total protozoa paling rendah jika dibandingkan dengan R₁ dan R₃. Konsentrasi total VFA dalam penelitian ini dipengaruhi (P < 0,05) oleh rasio JPA : konsentrat, namun tidak dipengaruhi oleh suplementasi ekstrak etanol daun waru. Hal ini menginformasikan bahwa suplementasi ekstrak etanol daun Waru tidak mempengaruhi aktivitas mikroba dalam memproduksi VFA. Hasil ini sejalan dengan Suharti *et al.* (2009) bahwa saponin ekstrak lerak tidak memengaruhi konsentrasi total VFA, namun produksi propionat meningkat, sementara produksi asetat, butirir, isovalerat dan valerat menurun. Wina *et al.* (2005), menyatakan bahwa suplementasi ekstrak metanol *Sapindus rarak* dengan taraf 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 dan 4,0mg/ml dalam ransum yang tersusun dari rumput gajah dan pollard (7:3) mengakibatkan perubahan proporsi molar VFA yaitu asetat dan butirir menurun, tetapi propionat meningkat.

KESIMPULAN

Imbalan JPA dan konsentrat 55:45 (%) BK) dan ekstrak etanol 400 ppm menghasilkan efisiensi metabolisme rumen dan sintesis protein mikroba yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC., 2019. Officials method of analysis of AOAC International. 19th ed. Assoc. of Off. Anal. Chem., Maryland, USA.
- Adawiyah, Sutardi, T., Toharmat, T., Manalu, M., Ramli, R., Tanuwiria, U.H., 2007. Respons terhadap suplementasi sabun mineral dan mineral organik serta kacang kedelai sangrai pada indikator fermentabilitas ransum dalam rumen domba. *Media Peternakan*.3(1): 63-70.
- Bata, M., Hidayat, N., 2010. Penambahan molases untuk meningkatkan kualitas amoniasi jerami padi dan pengaruhnya terhadap produk fermentasi rumen secara in-vitro. *J. Agripet*. 10(2): 27-33.
- Bata, M., Rahayu S., Hidayat N., 2016. Performan sapi sumba ongole (SO) yang diberi jerami padi amoniasi dan konsentrat yang disuplementasi dengan tepung daun waru (*Hibiscus Tiliaceus*). *J. Agripet*. 16(2): 106-113.
- Bata, M., Rahayu S., 2017. Evaluation of bioactive substances of *Hibiscus tiliaceus* and it's potency to minimize methane emission and rumen efficiency. *Curr. Bioact. Compd*. 13(2): 157-164.
- Beauchemin, K.A., McAllister T.A., McGinn S.M., 2009. Dietary mitigation of enteric methane from cattle. *CAB Rev*. 4:1-18.
- Bodas, R., Prieto N., García-González R., Andrés S., Giráldez F.J., López S., 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Anim. Feed Sci. Technol*. 176: 78-93
- Chen, D., Chen X., Tu T., Wang B., Lou C., Ma T., Diao Q., 2015. Effects of mulberry leaf flavonoid and resveratrol on methane emission and nutrient digestion in sheep. *Anim. Nut*. 1(2): 362-367.
- Chanthakhoun, V., Wanapat M., Wachirapakorn C., Wanapat S. 2011., Effect of legume (*Phaseolus calcaratus*) hay supplementation on rumen microorganisms, fermentation and nutrient digestibility in swamp buffalo. *Livest. Sci*. 140: 17- 23.
- Close, W., Menke, K.H., 1986. Selected Topics in Animal Nutrition. A Manual Prepared for the Third Hohenheim Course on Animal Nutrition in The Tropics and Semi-Tropics. 2nd ed. The Institute of Animal Nutrition, Hohenheim University, Stuttgart.
- Davids, N.C., Smith, E.L., 1958. Methods of Biochem. Analysis, Vol. 2, 2nd Printing. ed. Gliok, Interscience Publisher, Ins., New York.
- Hanafi, E.M., El Khadrawy H.H., Ahmed W.M., Zaabal M.M., 2012. Some observation on rice straw with emphasis on updates of its management. *World Appl. Sci. J*. 16: 354-361.
- Haque, M.N., 2018. Dietary manipulation: a sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants. *J. Anim. Sci. Technol*. 60:15.
- Hassouna, M., Eglin, T., 2016. Measuring Emissions From Livestock Farming: Greenhouse gases, Ammonia and Nitrogen oxides. Mélynda Hassouna et Thomas Eglin (ed). RMT Elevage et Environnement. Perancis. pp: 207-209.
- Holtshausen, L., .Chaves, A.V, Beauchemin, K.A., McGinn S.M, Odongo, N.E. , Cheeke, P.R., Benchaar, C., 2009. Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. *J. Dairy Sci*. 92(6): 2809-2821.
- Hünerberg, M., McGinn, S.M., Beauchemin, K. AEntz, T., Okine, E.K., Harstad, O.M., McAllister T.A., 2015. Impact of ruminal pH on enteric methane emissions. *J. Anim. Sci*. 93: 1760-1766.
- Istiqomah, L., Herdian, H., Febrisantosa, A., Putra, D., 2011. Waru leaf (*Hibiscus tiliaceus*) as saponin source on *in vitro* ruminal fermentation characteristic. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric*. 36(1): 43-49.
- Jadhav, R.V., Kannan A., Bhar R., Sharma O.P., Gulati A., Rajkumar K., Mal G., Singh B., Verma M.R., 2016. Effect of tea (*Camellia sinensis*) seed saponins on *in vitro* rumen fermentation, methane production and true digestibility at different forage to concentrate ratios. *J. Applied Anim. Res*. 46(1): 118-124.
- Jayanegara, A., Krisnawan N., Widyawati Y., Sudarman, A., 2017. Ammoniation of rice straw and supplementation of *Paraserianthes falcataria* and *Sapindus*

- rarak* on *in vitro* rumen fermentation and methane production. *Buletin Peternakan*. 41 (4): 420-430.
- Katarina, L.S, Macdonald, S.J.F., Willis, P.A., 2012. Small molecule anti-malarial patents: a review. *EOTPEG*. 22(6): 607-643.
- Khandaker, Z.H., Uddin M.M., Sultana M.N., Peters, K.J., 2012. Effect of supplementation of mustard oil cake on intake, digestibility and microbial protein synthesis of cattle in a straw-based diet in *Bangladesh*. *Trop. Anim. Health Prod.* 44: 791-800.
- Khan, M.A., Iqbal Z., Sarwar, M., Nisa, M., Khan, M.S., Lee, W.S., Lee, H.J., Kim, H.S., 2006. Urea Treated Corncobs Ensiled with or without Additives for Buffaloes: Ruminal Characteristics, Digestibility and Nitrogen Metabolism. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 19(5): 705-712.
- Kim, S.H., Lovelia, L., Mamuad, Kim, E.J., Sung, H.G., Bae, G.S., Cho, K.K., Lee C., Lee, S.S., 2018. Effect of different concentrate diet levels on rumen fluid inoculum used for determination of invitro rumen fermentation, methane concentration, and methanogen abundance and diversity. *Italian J. Anim. Sci.* 17(2): 359-367.
- Kliem, K.E., Humphries, D.J., Kirton, P., Givens D.I., Reynolds, C.K., 2018. Differential effects of oilseed supplements on methane production and milk fatty acid concentrations in dairy cows. *Animal*. 3(2): 309-317.
- Li, Z., Deng, Q., Liu, Y., Yan, T., Li, F., Cao, Y., Yao, J., 2018. Dynamics of methanogenesis, ruminal fermentation and fiber digestibility in ruminants following elimination of protozoa: a meta-analysis. *J. Anim. Sci. & Biotechnol.* 9: 89-101.
- Makkar, H.P.S., Sharma, O.P., Dawra, R.K., Negi, S.S., 1982. Simple determination of microbial protein in rumen liquor. *J. Dairy Sci.* 65: 2170-2173.
- Millen, D.D., Arrigoni, M.D.B., Pacheco, R.D.L., 2016. *Rumenology*. 1st ed. Springer: International Publishing.
- Murphy, M.R., Baldwin, R.L., Koong, J.J., 1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 55: 411-421.
- Moss, A.R., 1993. *Methane Global Warming and Production by Animals*. Chalcombe Publications, Canterbury.
- Newbold, C.J., de la Fuente, G., Belanche, A., Ramos-Morales, E., McEwan, N.R., 2015. The Role of Ciliate Protozoa in the Rumen. *Front Microbiol.* 6:1313.
- Nguyen, S.N., Nguyen, H.D.T., Hegarty, R.S., 2020. Defaunation and its impacts on ruminal fermentation, enteric methane production and animal productivity. *Livest. Rest. Rural Develop.* 32: 60-69.
- Ogimoto, K., Imai, S., 1981. *Atlas of Rumen Microbiology*. JSSP, Tokyo.
- Patra, A.K., Saxena, J., 2009. The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. *Nutr. Res. Rev.* 22: 204-19.
- Qin, W.Z., Li, C.Y., Kim, J.K., Ju1, J.G., Song, M.K., 2012. Effects of defaunation on fermentation characteristics and methane production by rumen microbes *in vitro* when incubated with starchy feed sources. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 25: 1381-1388.
- Ryle, M., Orskov, E.R., 1990. *Energy nutrition in ruminants*. 1st ed. Springer, Netherlands.
- Safari, J.G., Mushi, D.E., Mtenga, L.A., Kifaro, G.C., Eik L.O., 2011. Growth, carcass yield and meat quality attributes of Red Maasai sheep fed wheat straw-based diets. *Trop. Anim. Health Prod.* 43: 89-97.
- Steel, R.G.D., Torie J.H.. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistik Suatu Pendekatan Biometrik*. Edisi ke-2. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Su, Y., Zhao, G., Wei, Z., Yan, C., Liu, S., 2012. Mutation of cellulose synthase gene improves the nutritive value of rice straw. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 25: 800-805.
- Suharti, S., Astuti, D.A., Wina, E., 2009. Kecernaan nutrien dan performa produksi sapi potong peranakan ongole (PO) yang diberi tepung lerak (*Sapindus rarak*) dalam ransum. *JITV*. 14(3): 200-207
- Tan, C., Ramírez-Restrepo, C.A., Shah, A.M., Hu, R., Bell, M., Wang, Z., McSweeney, C.,

2020. The community structure and microbial linkage of rumen protozoa and methanogens in response to the addition of tea seed saponins in the diet of beef cattle. *J Anim. Sci. & Biotechnol.* 11: 80-90.
- Tempone, A.G., Silva, A.C.M.P., Brandt, C.A., Martinez, F.S., Borborema, S.E.T., Silveira, M.A.B., Andrade, H.F. 2005. Synthesis and antileishmanial activities of novel 3-substituted quinolines. *Antimicrob. Agents Chemoter.* 49(3): 1076–1080.
- Thalib, A., Widiawati, Y., Haryanto, B., 2010. Penggunaan complete rumen modifier (CRM) pada ternak domba yang diberi hijauan pakan berserat tinggi. *JITV.* 15(2): 97-104.
- Ulfina, G., Lemma, F., Tekalign, T., Amanuel, B., 2018. Rumen manipulation: one of the promising strategies to improve livestock productivity-review. *Dairy & Vet. Sci. J.* 8(5): 1-4.
- Tilley, J.M.A., Terry, R.A., 2006. A two-stage technique for the in vitro digestion of forages crops. *Grass Forage Sci.* 18(2): 104–111.
- Wallace, R.J., Rooke, J.A., Duthie, C.A., Hyslop, J.J., Ross, D.W., McKain, N., de Souza, S.M., Snelling, T.J., Waterhouse, A., Roeche, R., 2014. Archaeal abundance in post-mortem ruminal digestamay help predict methane emissions from beef cattle. *Sci. Rep.* 4: 58-92.
- Wanapat, M., Kang, S.S., Polyorach, 2013. Development of feeding systems and strategies of supplementation to enhance rumen fermentation and ruminant production in the tropics. *J Anim Sci Biotechnol.* 4(1): 32
- Williams, A.G., Coleman, G.S. 1992. The Rumen Protozoa. New York: Springer-Verlag
- Wina, E., Stefan M., Klaus B. 2005. The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant productions-a review. *J. Agric. Food Chem.* 53: 8093–8105.
- Wina, E., Muetzelb, S., 2020. Effect of lerak (*sapindus rarak*) extract in high roughage diet on rumen microbial protein synthesis and performance of sheep. *Indonesian J. Agric. Sci.* 21(2) : 89–97.